



INHALT

WISSENSCHAFT + FORTBILDUNG

Übersichtsreferat

- S. Rosenboom, A. Rautmann, W. L. Gross*
Anti-zytoplasmatische Antikörper (ACPA) in der indirekten
Immunfluoreszenz: Probleme beim Testaufbau und bei der
Testbeurteilung 339

Originalien

- A. Pickert*
Nährmedien zur Anzucht von *Campylobacter jejuni/coli*
aus Stuhl 346
- H. Luthe, K.-J. Knoke, W. Stockmann*
Erprobung der ISE-Einheit des Hitachi 704 350
- N. Katz, T. Lenz*
Vergleich der Volumen-Verteilungs-Analyse von Leukozy-
ten am Coulter Stacker mit der cytochemisch-cytometri-
schen Klassifizierung am Technicon H 6000 und der mikro-
skopischen Differenzierung 354
- P. Hengster, M. P. Dierich*
Cytomegalovirus serology: Comparison of different ELISAs
with complement fixation and indirect immunofluorescence
for the detection of antibodies 363
- G. Oremek, U. B. Seiffert, T. Walther, W. H. Siede*
Das Angiotensin-Converting-Enzyme im Serum pneumo-
logischer Patienten 368
- G. Döller, C. Merk, H.-J. Gerth*
Serologische Influenza-Diagnostik: Ist der Immunfluores-
zenztest eine Alternative zum Hämagglutinationshemmtest
beim stammspezifischen Antikörpernachweis? 372

- Buchbesprechung** 371

- Leserbriefe** 378

- INSTAND-Symposium 1988** 380

BERUFLICHE MITTEILUNGEN

BDL

Herbsttagung 1988:

Kurzfassungen der Vorträge

- Autoimmunphänomene (*E. W. Rauterberg*) 111
- Serologische Befunde bei autoimmunen Lebererkrankun-
gen (*R. Klein, P. A. Berg*) 112
- Autoimmunität bei chronisch-entzündlichen Darmerkran-
kungen (*W. Stöcker, M. Otte, P. C. Scriba*) 113
- Anwendungsmöglichkeiten der Durchflußzytometrie in der
Laboratoriumsmedizin (*G. Schmitz*) 114
- Autoimmunhämolytische Anämien (*H.-P. Geisen*) 115
- Defektimmunopathien (*F. Bläker*) 116
- Immunphänomene bei rheumatischen Erkrankungen
(*H. P. Seelig*) 116
- Immunopathien des endokrinen Systems (*K. Federlin*) ... 116
- Immunologie der Bronchiallavage (*M. Rust*) 116
- Mitteilungen* 118
- Preisverleihungen* 118
- Personalien* 119
- Geburtstage* 119
- Aus dem DIN – Deutsches Institut für Normung e.V.* ... 120
- Kurzitate* 120
- Eingegangene Bücher* 120
- Buchbesprechungen* 122
- Tagungen* 124
- Terminkalender* 124
-
- Impressum XXXII
- Zeitschriftenspiegel XXXII
- Produktnachrichten XXXIV
- Bezugsquellenverzeichnis XXXVII

Editorial Board, Wissenschaft + Fortbildung:

Prof. Dr. F. Gabl, Inst. f. Klin. Chemie und Laboratoriumsdiagnostik, Lazarettgasse 14, A-1090 Wien; Prof. Dr. R. Haeckel, Zentralkrankenhaus „St.-Jürgen-Straße“,
St.-Jürgen-Straße, 2800 Bremen 1; Prof. Dr. Dr. Herbert Keller, Kantonspital, CH-9001 St. Gallen; Prof. Dr. med. H. Reinauer, Diabetesforschungsinstitut, Auf'm
Hennekamp 65, 4000 Düsseldorf.

Herausgeber:

Deutsche Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin e.V.; Berufsverband Deutscher Laborärzte e.V., Witzelstraße 63, 4000 Düsseldorf 1, Tel. 0211/340456

Hauptschriftleiter Deutsche Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin e.V., Redaktion Wissenschaft + Fortbildung (verantwortlich):

Prof. Dr. Lothar Thomas, Fuchstanzstraße 33, D-6000 Frankfurt/Main 90, Tel. 069/7601-252

Schriftleiter INSTAND e.V. (verantwortlich):

Dr. med. Wolfgang Schütz, Oranienburger Weg 37, D-1000 Berlin 46, Tel. 030/7754287

Hauptschriftleiter Berufsverband Deutscher Laborärzte e.V., Redaktion Berufliche Mitteilungen (verantwortlich):

Dr. med. Wolfgang Hauck, Strählerweg 117, D-7500 Karlsruhe 41, Tel. 0721/492550

Einsendungen an die Hauptschriftleiter, auch über Editorial Board.

Wissenschaftlicher Beirat:

Prof. Dr. rer. nat. W. Appel, Karlsruhe; Prof. Dr. A. Arndt-Hanser, Mainz; Prof. Dr. med. G. Assmann, Münster; Prof. Dr. med. P. Bayer, Wien; Prof. Dr. med. K.
Borner, Berlin; Dr. med. K. G. v. Boroviczény, Freiburg; Dr. F. Dati, Marburg; Prof. Dr. med. B. Deus, Bad Homburg; Prof. Dr. med. H. W. Doerr, Frankfurt; Dr. Dr.
P. C. Döller, Tübingen; Dr. med. O. Fenner, Hamburg; Priv.-Doz. Dr. med. P. C. Fink, Bremen; Prof. Dr. med. F. Gabl, Wien; Prof. Dr. med. H. P. Geisen, Schwäbisch-
Hall; Prof. Dr. med. R. Haeckel, Bremen; Dr. med. W. Hauck, Karlsruhe; Dr. med. W. Herold, Berlin; Dr. med. H. Hohenwallner, Linz; Prof. Dr. med. vet. R. Janitschke,
Berlin; Prof. Dr. med. H. Keller, St. Gallen; Priv.-Doz. Dr. R. Koberstein, Mannheim; Prof. Dr. med. V. Kretschmer, Marburg; Dr. med. J.-R. Krone, Herford; Prof.
Dr. med. J. D. Kruse-Jares, Stuttgart; Prof. Dr. med. P. Kühnl, Frankfurt; Dr. med. H. Lommel, Leverkusen; Prof. Dr. med. R. Merten, Düsseldorf; Prof. Dr. Dr. E.
Müller, Braunschweig; Prof. Dr. med. D. Paar, Essen; Prof. Dr. med. E. W. Rauterberg, Heidelberg; Prof. Dr. med. H. Reinauer, Düsseldorf; Prof. Dr. med. L. Röcker,
Berlin; Prof. Dr. med. M. Schöneshofer, Berlin; Prof. Dr. med. H. P. Seelig, Karlsruhe; Prof. Dr. med. D. Seiler, Ludwigshafen; Prof. Dr. med. S. Seidl, Frankfurt; Dr.
med. Dipl.-Biochem. R. Seuffer, Reutlingen; Dr. med. R. Sommer, Linz; O. Sonntag, Hannover; Dr. E. Spanuth, Mannheim; Prof. Dr. med. L. Thomas, Frankfurt;
Prof. Dr. med. Ch. Trendelenburg, Frankfurt; Prof. Dr. med. H. Trobisch, Duisburg; Prof. Dr. Dr. H. Wisser, Stuttgart.

Autoimmunität bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

W. Stöcker, M. Otte, P. C. Scriba

Medizinische Universität Lübeck, Klinik für Innere Medizin
Ratzeburger Allee 160, 2400 Lübeck

Viele Beobachtungen sprechen dafür, daß Colitis ulcerosa und Morbus Crohn Autoimmunerkrankungen sind. So verlaufen beide schubweise und chronisch, und sie sprechen gut auf eine immunsuppressive Therapie an. Der wichtigste Anhaltspunkt dafür ist aber das Auftreten organ- und krankheitsspezifischer Autoantikörper – bei Colitis ulcerosa sind es Antikörper gegen intestinale Becherzellen, bei Morbus Crohn Antikörper gegen exokrines Pankreas.

Die Becherzell-Antikörper wurden bereits 1959 entdeckt (1). Man hat sie zuerst durch Hämagglutinations- und Geldiffusionstechniken dargestellt, später durch indirekte Immunfluoreszenz. Lange wurde auch bei Morbus Crohn nach Autoantikörpern gesucht. Es lag nahe, für deren Nachweis ebenfalls Darmgewebe einzusetzen, aber das führte nicht zum Ziel. Durch Anwendung eines neuen, standardisierten Immunfluoreszenz-Verfahrens ist es uns gelungen, die Morbus-Crohn-assoziierten Autoantikörper zu identifizieren: Sie richten sich gegen einen makromolekularen Bestandteil des Pankreas-Sekrets (2, 3).

Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen sind ein signifikantes serologisches Erkennungsmerkmal für Colitis ulcerosa. Sie führen im indirekten Immunfluoreszenztest zu einer unscharf begrenzten, wolkigen Anfärbung der Becherzellen. Für die Unter-

suchung eignen sich alle Darmabschnitte vom Duodenum bis zum Rektum, die Resultate lassen sich aber am besten mit Dünndarm beurteilen.

Die Untersuchung wird besonders empfindlich, wenn man fetales Gewebe verwendet: Dieses ist noch nicht mit exogenen Substanzen in Berührung gekommen (Nahrungsmittel, Bakterien), die in einigen Fällen unspezifische Antikörper binden und dadurch eine störende Hintergrund-Fluoreszenz erzeugen würden. Es kommt aber vor allem darauf an, für den Nachweis der Becherzell-Antikörper Primatengewebe einzusetzen, wenn möglich humanen Darm. Mit Rattengewebe werden beispielsweise Antikörper erfaßt, die auch mit Morbus-Crohn-Seren reagieren.

Die mit Primatengewebe nachgewiesenen Becherzell-Antikörper bestehen aus Immunglobulinen der Klassen IgA und IgG, und sie fixieren kein Komplement. Bereits Spuren dieser Antikörper sind signifikant für Colitis ulcerosa, man kann aber gelegentlich auch Titer bis 1:1000 sehen. Die Prävalenz der Becherzell-Antikörper beträgt im Durchschnitt etwa 28% aller Fälle mit Colitis ulcerosa, sie ist unabhängig von Erkrankungsdauer und Lebensalter, scheint aber umso höher zu sein, je schwerer die Colitis ausgeprägt ist. Bei Männern liegt die Prävalenz über 40%, bei Frauen unter 20% (2, 3). Des Weiteren sind Becherzell-Antikörper bei Patienten mit der Blutgruppe O deutlich seltener als bei Patienten mit den Blutgruppen A oder B, am häufigsten sind sie, wenn die Blutgruppe AB vorliegt.

Autoantikörper gegen exokrines Pankreas kennzeichnen den Morbus Crohn. Sie stellen das Pendant zu den Becherzell-Antikörpern bei Colitis ulcerosa dar. Auf Pankreasgewebe von Primaten erzeugen sie eine netzig-granuläre Fluoreszenz der Azinuszellen, die sich zum Lumen hin verdichtet. Bei hochtitrigen Seren leuchten auch Sekrettröpfchen. Pankreasinseln werden nicht angefärbt.

Die Pankreas-Antikörper bei Morbus Crohn setzen sich im wesentlichen aus IgA und IgG zusammen, in einigen Fällen fixieren sie Komplement. Ihre Serum-Konzentration ist bei Morbus Crohn in der Regel sehr hoch, Titer ab 1:100 beweisen einen Morbus Crohn. Pankreas-Antikörper treten bei etwa 39% der Patienten mit Morbus Crohn auf, in Titern ab 1:100 bei 29% (2, 3). Liegt der Beginn der Erkrankung länger als zwei Jahre zurück, dann zeigen sich die Pankreas-Antikörper häufiger als bei Neuerkrankungen, die Prävalenz ist aber unabhängig von Lebensalter und Geschlecht der Patienten.

Das Pankreas-Autoantigen ist im normalen Pankreassekret enthalten und läßt sich hieraus anreichern. Es handelt sich um ein Makromolekül mit einem Molekulargewicht von etwa einer Million, mit dem die Pankreas-Antikörper jedes positiven Crohn-Serums neutralisiert werden können. Es besitzt keine Aktivität der Enzyme Trypsin, Chymotrypsin, Amylase und Lipase.

Diagnostischer Wert der Autoantikörper: Antikörper gegen intestinale Becherzellen von Primaten werden ausschließlich bei Colitis ulcerosa beobachtet. Signifikante Konzentrationen von Antikörpern gegen exokrines Pankreas sind dagegen außer bei Morbus Crohn auch bei Pankreatitis und vereinzelt bei Colitis ulcerosa nachweisbar, jedoch nur in Titern bis 1:32. Bei chronischer und akuter Pankreatitis betrug die Prävalenz der Pankreas-Antikörper nur 5%, und ihre Konzentration war niedrig (Titer bis 1:10, ausnahmsweise bis 1:32). Im Gegensatz zu den Morbus-Crohn-Antikörpern bestanden sie ausschließlich aus IgA. Sie konnten in der Regel nicht mit Pankreassekret neutralisiert werden (4).

Becherzell-Antikörper oder hochtitrige Pankreas-Antikörper ließen sich bei keinem von über 3000 Patienten mit verschiedenen anderen Autoimmunerkrankungen und bei keiner von 500 gesunden Kontrollpersonen feststellen. Die hohe Signifikanz der Becherzell-Antikörper für Colitis ulcerosa und der Pankreas-Antikörper für Morbus Crohn wurde mittlerweile auch von anderen Autoren bestätigt (z. B. 5).

Bei 2 von 164 Patienten mit Colitis ulcerosa wurden Pankreas- und Becherzell-Antikörper in ein und demselben Serum nachgewiesen. Möglicherweise lagen hier eine Colitis ulcerosa und ein Morbus Crohn nebeneinander vor, wobei sich das klinische und morphologische Bild der Colitis ulcerosa durchgesetzt hat.

Für Familienangehörige von Patienten mit Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa besteht ein erhöhtes Risiko, von einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung befallen zu werden. Bei 185 gesunden Verwandten ersten Grades von 98 Patienten mit Colitis ulcerosa oder Morbus Crohn wurden aber in keinem Falle Pankreas- oder Becherzell-Antikörper gefunden (6). Offensichtlich

treten beide Antikörper erst dann auf, wenn man erkrankt ist, und nicht schon bei Vorliegen einer entsprechenden Disposition.

Nach unseren Ergebnissen sind Pankreas-Antikörper in Titern über 1:32 pathognomonisch für einen manifesten Morbus Crohn, Becherzell-Antikörper in jeder Konzentration für Colitis ulcerosa. Beide stellen daher eine wertvolle diagnostische Hilfe dar. Allein durch die Untersuchung dieser Antikörper gelangt man bei einem Drittel der Patienten mit einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung zur Diagnose. Die hierfür eingesetzte indirekte Immunfluoreszenz ist treffsicher und reproduzierbar, wenn mit Pankreas und Darmgewebe von Primaten gearbeitet und verlässliche Analysetechniken verwendet werden.

Überlegungen zur Pathogenese der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen: Becherzell- und Pankreas-Antikörper sind hinsichtlich ihrer Organ- und Krankheitspezifität ähnlich signifikant wie andere Autoantikörper bei gesicherten Autoimmunerkrankungen. Analog zu diesen könnten auch bei Colitis ulcerosa und bei Morbus Crohn die assoziierten Autoantikörper und ihre Zielantigene den Fingerzeig auf die Pathogenese der jeweiligen Erkrankung geben:

Bei *Colitis ulcerosa* besteht eine Autoimmunität gegen einen Bestandteil des Becherzell-Inhalts. Möglicherweise reagieren die Becherzell-Antikörper im Darm mit diesen Antigenen, und die dabei gebildeten Immunkomplexe rufen die Entzündung hervor. Alternativ oder zusätzlich könnten auch die als fremd erkannten Becherzellen und die übrigen (Mucin-beladenen) Enterocyten von cytotoxischen T-Lymphozyten angegriffen werden. Hinzu kommt vielleicht noch die antikörperabhängige zelluläre Immunität. Die Auswirkungen sind dort am größten, wo die Antigenkonzentration am höchsten ist.

Diese Vorstellung wird vor allem dadurch untermauert, daß das Ausbreitungsmuster der Colitis ulcerosa genau der makroskopischen und mikroskopischen Verteilung der Becherzellen im Darm entspricht (die Erkrankung manifestiert sich nahezu ausschließlich im Dickdarm, unter Bevorzugung des Rektums, und es treten häufig Kryptenabszesse auf).

In der Regel kommt es zu keiner wesentlichen Besserung der Colitis ulcerosa bei parenteraler Ernährung oder bei Ableitung des Darminhalts durch ein Ileostoma: Beide Maßnahmen bewirken keine Reduktion des Becherzell-Antigens im Dickdarm. Es ist auch verständlich, weshalb man bisher bei Colitis ulcerosa cytotoxische Immunreaktionen gegen isolierte Colonepithelzellen nicht reproduzierbar auslösen konnte: Die Enterocyten müßten zuvor mit Becherzell-Mucin beschichtet werden! Einige Autoren vermissen einen Abfall der Becherzell-Antikörper nach Kolektomie: Man müßte dann schon das gesamte Intestinum resezieren, weil auch der Dünndarm Becherzellen enthält. Deren Anzahl reicht zwar für eine Aufrechterhaltung der Antikörper-Produktion nach Kolektomie aus, nicht aber für die Ausbildung einer Enteritis.

Bei *Morbus Crohn* besteht wahrscheinlich eine Überempfindlichkeit des Darms gegen ein Sekretionsprodukt des Pankreas (7). Dieses wird bei jedem Menschen in das Duodenum ausgeschieden und normalerweise auch toleriert, bei den Patienten mit Morbus Crohn reagiert aber das in die Darmwand gelangende Antigen mit den lokal gebildeten Autoantikörpern. Die entstehenden Immunkomplexe aktivieren Komplement und bewirken dadurch eine Entzündungsreaktion. Die Krankheitserscheinungen treten in den meisten Fällen nur im Ileum und im Colon auf, weil erst dort das Antigen in einer effektiven Konzentration vorliegt. Auch bei Morbus Crohn könnten ergänzend zelluläre Immunreaktionen hinzutreten oder sogar im Vordergrund stehen. Eine Pankreatitis ist zwar bei Morbus Crohn vergleichsweise häufig, sie tritt aber meistens nicht in Erscheinung, weil das Autoantigen erst im Darm mit dem Immunsystem in Berührung kommt.

Die Patienten mit Morbus Crohn neigen zu einer Kohlenhydratreichen Ernährung, was man als einen unbewußten Versuch interpretieren kann, die Pankreas-Sekretion zu drosseln. Auch der günstige Einfluß einer parenteralen Ernährung oder einer Elementardiät auf den Verlauf des Morbus Crohn läßt sich erklären, weil dadurch das exokrine Pankreas ruhiggestellt wird. Leitet man den (Pankreas-Antigen-haltigen) Darminhalt durch ein Ileostoma ab, dann bessert sich erwartungsgemäß eine bestehende Crohn-Colitis — nicht aber die Colitis ulcerosa.

Es muß zunächst dahingestellt bleiben, wie die Autoimmunprozesse im einzelnen ablaufen. Die Becherzell- und die Pankreas-Antikörper brauchen beispielsweise gar nicht direkt an der Patho-

genese der entsprechenden Krankheiten beteiligt zu sein, vielleicht sind es Epiphänomene, die nur eine entsprechende zelluläre Immunität anzeigen — uns dienen sie aber möglicherweise doch als Wegweiser für die Entschlüsselung des Krankheitsgeschehens. Wie bei den anderen Autoimmunerkrankungen ist die Ursache für die Sensibilisierung noch nicht geklärt.

Schrifttum:

1. BROBERGER, O., PERLMANN, P.: J. Exp. Med. **110**, 657–674 (1959).
2. STÖCKER, W., OTTE, M., ULRICH, S., NORMANN, D., STÖCKER, K., JANTSCHKEK, G.: Dtsch. Med. Wschr. **109**, 1963–1969 (1984).
3. STÖCKER, W., OTTE, M., ULRICH, S., NORMANN, D., FINKBEINER, H., STÖCKER, K., JANTSCHKEK, G., SCRIBA, P. C.: Scand. J. Gastroenterol. **22** (Suppl. 139), 41–52 (1987).
4. HELLWIG, D., OTTE, M., REDDIG, U., STRUVE, D., STÖCKER, W.: Z. Gastroenterology **24**, 518 (1986).
5. SEIBOLD, F., WEBER, P., JENSS, H., WIEDMANN, K. H.: Klin. Wschr. **66** (Suppl. 13), 161 (1988).
6. KOSEGARTEN, T., DÖSCHER, M., JANTSCHKEK, G., BURMESTER, U., SCHMIDT, S., OTTE, M., STÖCKER, W.: Immunobiol. **173**, 337–338 (1986).
7. STÖCKER, W., OTTE, M., SCRIBA, P. C.: Dtsch. med. Wschr. **109**, 1984–1986 (1984).